

**ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO
REPRODUCTIVO EN LA ESPECIE DE PEZ
ANUAL *Austrolebias nigripinnis* REGAN, 1912
(CYPRINODONTIFORMES; RIVULIDAE)**

Juan C. Segovia

Informe de pasantía

Profundización en Evolución y Diversidad

2021

Orientador: Marcelo Loureiro

Co- orientador: Daniel García

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

URUGUAY

Por y para María Victoria y Agustín

Resumen

La familia Rivulidae es uno de los taxa con mayor diversidad específica de peces en la región Neotropical. Dentro de esta familia, *Austrolebias* Costa 1998 junto a otros géneros presentan un ciclo de vida anual único entre los vertebrados. Las hembras depositan huevos que contienen embriones con diapausa, resistentes a la desecación de los charcos temporales que habitan. Todas las especies del género presentan un marcado dimorfismo sexual, con machos que presentan colores vivos y brillantes, mientras que las hembras tienen el cuerpo gris pálido amarronado. Por tanto, la selección sexual podría estar cumpliendo un rol destacado en la evolución del grupo. El comportamiento reproductivo está directamente asociado a su particular ciclo de vida. Presentan un cortejo elaborado, que consiste en una serie de despliegues de atracción, evaluación y respuesta por parte del macho y la hembra, y cuya culminación es el enterramiento total o parcial de la pareja. El objetivo de este trabajo fue determinar el cortejo de *A. nigripinnis* Regan, 1912 desde un punto de vista cualitativo y cuantitativo. Se registró por medio de filmaciones en video la interacción de 12 enfrentamientos de parejas hembra-macho durante 30 minutos. En una primera etapa de la investigación se definieron las unidades comportamentales del cortejo de la especie. Posteriormente se analizó la frecuencia y el tiempo ocupado por las unidades para macho y hembra en general y por las 23 “secuencias exitosas completas de cortejo”, así como sus asociaciones y transiciones. El análisis del comportamiento reproductivo de *A. nigripinnis* a través de la secuenciación y cuantificación de las unidades comportamentales reveló que los machos realizan intensos despliegues, mientras que las hembras adoptan un rol más evaluador. El cortejo de *A. nigripinnis* presenta similitudes con otras especies del género, y diferencias cuantitativas, en frecuencia y duración de los despliegues. Esta variación puede considerarse como parte de la diferenciación a nivel de especie, la cual muestra afinidad filogenética, pero también identidad propia. La descripción detallada de todas las unidades que componen el cortejo de *A. nigripinnis* aportados en este trabajo puede ser útil para establecer relaciones de parentesco entre las especies.

Introducción

La teoría de la evolución introduce el concepto de que todos organismos están conectados y por lo tanto presentan una genealogía común (Darwin, 1872). Por eso los organismos más emparentados tienden a tener características similares. Estas similitudes son más evidentes en la morfología (Costa, 2006), pero también lo son en aspectos comportamentales (Lorenz, 1950, Lorenz 1958). Desde el punto de vista reproductivo hay una tendencia a tener características similares entre especies emparentadas. Gittleman & Decker (1994) afirman que los sistemas de apareamiento, despliegues comportamentales y otros aspectos de la reproducción, muestran una fuerte relación con la filogenia. Por otra parte, también tienen que existir diferencias entre las especies para minimizar los posibles efectos adversos de la hibridación (Barlow, 2002). El aislamiento reproductivo involucra factores que afectan mecanismos pre-cigóticos, como ser el establecimiento de la pareja y la cópula, como la formación del cigoto y la viabilidad de los híbridos en sus etapas de desarrollo. Estudios teóricos (West-Eberhard, 1983; Higashi et al., 1999) y empíricos (Uy & Borgia, 2000; Masta & Maddison, 2002) enfatizan la vinculación del comportamiento reproductivo y la especiación, la determinación de la direccionalidad de dicho vínculo es foco de controversia (Gray, 2004). Esas diferencias entre especies no necesariamente tienen que ser un despliegue visible, ya que los animales utilizan diversas señales para comunicarse. En los sistemas acuáticos las señales químicas son tan relevantes como las visuales en la comunicación (Ward *et al.*, 2002). También se ha documentado señales acústicas exhibidas por especies de peces anuales del género *Cynolebias* (Belote y Costa, 2003; Costa *et al.*, 2010), así como se ha sido sugerido que algunos de los despliegues de cortejo de los machos de *A. reicherti*, podrían verse asociados a la generación de señales mecánicas (García *et al.*, 2008). Estudiar el comportamiento reproductivo abre la posibilidad de comparar con otras especies emparentadas y observar similitudes y diferencias.

El orden Cyprinodontiformes constituye uno de los taxa más diversos de la ictiofauna del Neotrópico (Vari & Malabarba, 1998). Dentro de la familia Rivulidae, *Austrolebias* Costa 1998 es un género que se distribuye en la cuenca del Plata, el sistema Patos- Merín, y el SW de la cuenca del Amazonas (Loureiro *et al.*, 2018). Las especies de *Austrolebias* se caracterizan por estar adaptadas a la vida en charcos de aguas temporales o

estacionales que se forman en otoño y se secan a fines de primavera (Costa, 2006). Poseen un ciclo de vida anual que incluye embriones con diapausa que se desarrollan dentro de huevos que resisten a la desecación (Berois *et al.*, 2012). Presentan altas tasas metabólicas (Cardozo, 1999) y un elaborado comportamiento de cortejo, que culmina en la deposición de huevos en el sustrato (García *et al.*, 2008); para eclosionar en la siguiente temporada de lluvias tras atravesar tres estadios de diapausa (Wourms 1972 a, b, Berois *et al.*, 2012). Estos niveles metabólicos permiten que los juveniles alcancen la madurez sexual pocas semanas después de la eclosión (Cardozo, 1999). Una vez adultos, se reproducen constantemente hasta su muerte, la cual ocurre poco antes de secarse los charcos, probablemente debido a las altas temperaturas de fines de primavera (Simpson, 1979; Errea & Danulat, 2001) que provocan la disminución de las concentraciones de oxígeno en los charcos. Presentan un marcado dimorfismo sexual, con machos de colores vivos y brillantes, a diferencia de las hembras que muestran colores tenues (García *et al.*, 2008). Esta marcada diferencia en la coloración entre machos y hembras sugiere que la selección sexual podría estar cumpliendo un rol destacado en la evolución de todo el grupo (Passos *et al.*, 2013). En casi todas las especies de peces anuales neotropicales, los machos adultos son coloridos y muestran varios patrones de bandas verticales brillantes y/o puntos en el cuerpo, las aletas y la cabeza (particularmente sobre el opérculo), mientras que las hembras son principalmente marrones con manchas más oscuras en las aletas y el cuerpo (Berois *et al.*, 2015).

El comportamiento reproductivo de *Austrolebias* está estrechamente asociado a su particular ciclo de vida (García, 2013). Consiste en una serie de intercambio de señales entre macho y hembra que lleva a la pareja a enterrarse en el sustrato de los ambientes que habitan y depositan allí sus gametos. A pesar del interés que generan los peces anuales en diversos ámbitos, existen pocos estudios que analicen y cuantifiquen su cortejo (García *et al.*, 2008; Libran, 2011; García, 2013). La información existente indica que las diferentes especies realizan despliegues de cortejo cualitativamente similares (probables homologías), pero exhiben diferencias en la frecuencia y la duración de estas unidades, así como en las secuencias del cortejo (García, 2013).

En el comportamiento reproductivo de *Austrolebias*, el macho tiene un rol protagónico. Es el que está más activo durante el cortejo y presenta el mayor número de unidades comportamentales (García *et al.*, 2008; García, 2013). Las unidades más frecuentes en los machos son el Despliegue Lateral (DL), durante el cual el macho despliega sus aletas e intensifica su coloración, el Despliegue Sigmoide (DS) caracterizado por movimientos

ondulatorios del cuerpo con sus aletas extendidas y la Invitación al enterramiento (IE), cuando el macho se posiciona con el hocico apuntando hacia el sustrato en posición vertical o casi vertical. Estos tres comportamientos son componentes clave del cortejo. Los dos primeros como forma de atracción y el tercero es la señal que podrá o no desencadenar el apareamiento. Sin embargo, estas unidades pueden tener pequeñas variaciones que son parte de la variabilidad interespecífica y podrían ser claves para el reconocimiento intraespecífico (García, 2013). Las pocas excepciones se observan en especies de gran tamaño (García, 2013) del subgénero *Megalebias* (Costa, 2008).

Austrolebias nigripinnis es una especie de tamaño pequeño, que alcanza como máximo 4 cm. de longitud y se distribuye en las llanuras inundables de la cuenca baja de los ríos Paraná y Uruguay y en la zona costera del Río de la Plata (Fig. 1). Filogenias recientes ubican a esta especie como el taxón basal del género *Austrolebias*. Análisis de evidencia total confirman que esta especie puede haberse originado en la división más temprana de género (Loureiro., *et al* 2018).

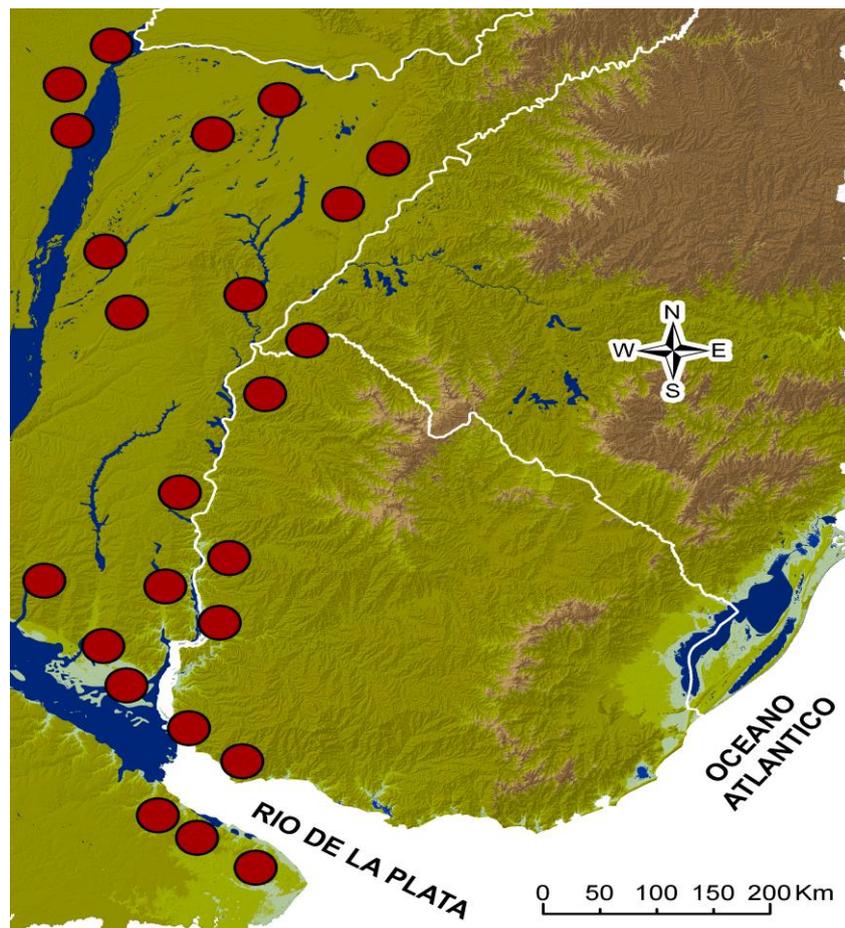


Figura 1. Mapa de la distribución de *Austrolebias nigripinnis* (puntos rojos). Modificado de Volcan *et al.*, 2017.

Esta especie posee el dimorfismo sexual típico del género (Costa, 2006). Los machos se reconocen por tenerlos flancos de color gris azulado oscuro a negro, con 7 a 12 filas verticales de puntos azules brillantes dispuestos en zigzag. Las hembras presentan a los lados del cuerpo de color marrón amarillento claro, con manchas de color gris oscuro, generalmente unidas, a veces formando barras cortas sobre la aleta anal (Fig.2).

a)



b)



Figura 2. a) Hembra de *A. nigripinnis*, b) macho de *A. nigripinnis*. Tomado de fishbase.org.

Si bien Vaz-Ferreira y colaboradores (1964, 1973) realizaron una descripción general del cortejo de *A. nigripinnis*, estos estudios carecen de datos cuantitativos que permitan una comparación con otras especies. Trabajos posteriores realizados en las especies *A. reicherti* (García *et al.*, 2008) y *A. affinis* (Librán, 2011) presentan datos cualitativos y cuantitativos de su cortejo, los cuales serán utilizados para comparar con los resultados de este trabajo.

El objetivo de este trabajo es describir el cortejo de *A. nigripinnis*, desde un punto de vista cualitativo y cuantitativo, a través de la descripción y análisis de las unidades comportamentales que lo componen. Los resultados serán comparados con los correspondientes en especies cercanas. Se realizarán análisis de las secuencias del comportamiento, registrando las unidades que lo componen y su duración. A partir de los datos obtenidos de la secuenciación, se analizará frecuencia y duración de las unidades componentes de cada “secuencia exitosa de cortejo” (desde que comienza el cortejo, hasta que finaliza con el enterramiento de la pareja) así como la transición entre las unidades. Los resultados obtenidos en este trabajo brindarán información básica sobre la biología de esta especie y servirán de insumo para futuras comparaciones con otras especies relacionadas.

Materiales y métodos

Los peces que se utilizaron en esta investigación fueron colectados en humedales asociados a Playa la Agraciada, departamento de Soriano y mantenidos en el bioterio de Facultad de Ciencias. Los individuos adultos fueron alimentados con *Tubifex* sp, mantenidos en acuarios en parejas (macho–hembra), de esta forma aseguramos que adquieran cierta experiencia intersexual antes de las observaciones. La temperatura fue constante (19° C) y los ciclos de luz-oscuridad natural. La semana previa a la realización de las observaciones los individuos fueron separados y mantenidos en acuarios –individuales, hasta el momento del inicio del registro, con el objetivo de asegurar que los individuos recuperen energía y lleguen en las mejores condiciones a los enfrentamientos. Esta metodología resultó ser efectiva para obtener enfrentamientos exitosos (García, 2013). Para las experiencias se colocó un macho y una hembra tomados aleatoriamente a partir del pool de individuos adultos, en peceras con fondo de cáscara de coco molida, con una profundidad aproximada de 7cm para permitir el enterramiento de la pareja. Cada individuo fue utilizado una sola vez para la prueba, de manera tal que las muestras analizadas fueran independientes. Al colocar los individuos en el acuario, la interacción de 12 enfrentamientos se registró en video durante 30 minutos cada una. Esta instancia fue desarrollada durante la estación invernal, más precisamente el mes de agosto.

En una primera etapa, a partir de la observación *ad libitum* se definieron las unidades comportamentales del cortejo. Esta definición tomó como referencia los trabajos de García *et al;* (2008), García (2013) y Librán (2011) en los que se realizaron descripciones detalladas de las unidades comportamentales componentes del cortejo de otras especies de *Austrolebias* (Tabla.1). Luego se realizó la secuenciación del comportamiento en forma simultánea para macho y hembra sobre la base de las unidades descritas. A partir de los datos obtenidos se analizó frecuencia y duración de las unidades de las secuencias exitosas de cortejo, así como su transición.

Se elaboraron matrices de transición de las unidades realizadas para cada individuo; a partir de estas, se construyeron diagramas de flujo entre las unidades para cada sexo utilizando el promedio del total de transiciones entre las unidades. Se secuenciaron 12 parejas y solo 8 realizaron secuencias exitosas completas del cortejo (SEC). Incluidos en las SEC se definieron “sectores calientes”, basados en su proximidad a la unidad Apareamiento (A), la cual es la consumación del apareamiento. Estos sectores calientes

están constituidos por secuencias de 6 unidades, 3 que anteceden y 2 posteriores al apareamiento.

Se obtuvieron parámetros estadísticos (medias y desvío estándar) de frecuencia y duración para cada pareja, de cada unidad desplegada dentro de cada secuencia exitosa. De esta forma se obtuvieron datos a nivel individual y variabilidad intraespecífica. A partir de la secuenciación del comportamiento se obtuvieron la frecuencia y la duración de todas las unidades para ambos sexos. Para observar la variación intraespecífica entre las 8 parejas que alcanzaron las SEC se construyeron gráficos de frecuencias y duración de las unidades para machos y hembras, tablas de frecuencias y duración (media \pm desvío estándar) y tablas de frecuencia y duración absoluta de las unidades para las 23 SEC para ambos sexos. También se elaboró una tabla para representar la relación entre las unidades Invitación al Enterramiento y Apareamiento, así como las Invitaciones al enterramiento fallidas con sus respectivas frecuencias relativas.

Resultados

Las parejas que lograron “secuencias exitosas completas del cortejo” (SEC) fueron 8. En total se obtuvieron 23 SEC, 3 parejas lograron 2 SEC, otras 3 hicieron 3 SEC y 2 hicieron 4 SEC. La descripción de las unidades comportamentales de los enfrentamientos de las 8 parejas de *A. nigripinnis* se detallan en la Tabla. 1.

Descripción de las secuencias comportamentales

Los encuentros comenzaron con las hembras en Q y los machos una vez introducidos al acuario, realizaron comportamientos diferentes: - 2 permanecen unos segundos en una especie de período variable de aclimatación para posteriormente intensificar sus colores y adoptar una conducta más activa, y- 6 directamente realizaron la unidad DL.

La secuencia del cortejo de *A. nigripinnis* se inicia cuando el macho realiza las unidades DL y/o DS hacia la hembra. Si el macho logra el acercamiento de la hembra, realiza la IE, y ésta AE y se logra el A. Del análisis surge que 6 de las 8 parejas presentaron al menos una Invitación al enterramiento fallida (IEF) antes de que la hembra AE. La pareja 12 realizó 4 IE y 2 IEF, mientras que la pareja 3 logró que el 100% de las IE fueran aceptadas por la hembra (2 IE y ningún IEF). La proporción de Apareamientos respecto de

la cantidad de Invitación al enterramiento, así como las invitaciones al enterramiento fallidas fueron muy variables. Las parejas lograron un total de 23 Apareamientos, los machos realizaron 96 Invitaciones al enterramiento, de las cuales 73 fueron fallidas IEF (Tabla.2).

Tabla 1. Descripción de las principales unidades comportamentales de machos y hembras de *A. nigripinnis*. M-H indica si la unidad la realizan machos, hembras o ambos.

Unidad	Código	Descripción	Machos(M) y Hembras(H)
Despliegue Lateral	DL	Extiende sus aletas impares y tensa su cuerpo.	M
Despliegue Sigmoide	DS	Realiza ondulaciones del cuerpo con aletas extendidas.	M, H
Invitación al Enterramiento	IE	Se posiciona con la cabeza apuntando hacia el sustrato, extiende las aletas y las hace vibrar.	M
Aceptación del Enterramiento	AE	Se ubica al costado del macho que esté haciendo IE, en posición vertical y lo toca con su cabeza.	H
Invitación al Seguimiento	IS	Nada una corta distancia y espera que la hembra lo siga	M
Aceptación al Seguimiento	AS	Sigue al macho luego de que éste realiza IS.	H
Apareamiento	A	Se entierran total o parcialmente en el sustrato. Donde la hembra libera sus gametos y el macho los fertiliza.	M, H
Espera	E	Período refractario entre un apareamiento y otra unidad.	M, H
Quietud	Q	La hembra acompaña los despliegues del otro. No permanece necesariamente inmóvil, puede realizar movimientos.	H
Nado Orientado	NO	Nada en dirección a su pareja.	M, H
Nado Errático	NE	Nada sin orientación aparente	M, H
Alejamiento	ALEJ	Nada en dirección opuesta a su pareja.	M, H

Tabla 2. Frecuencias relativas de las unidades Invitación al enterramiento (IE) y Apareamiento (A), así como la Invitación al enterramiento fallidas (IEF), en las 4 SEC.

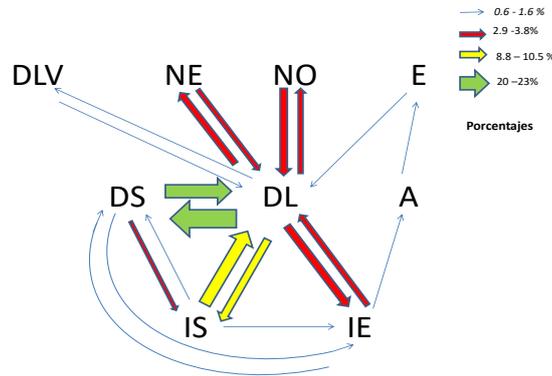
Pareja	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4	Frecuencias relativas	Apareamientos
# 1	IE:1 IEF:1	IE:1 IEF:3	IE:0 IEF:0	_____	IE:(33%) IEF:(66%)	2
# 3	IE:1 IEF:0	IE:1 IEF:0	IE:0 IEF:0	_____	IE:(100%) IEF:0	2
# 4	IE:1 IEF:1	IE:1 IEF:2	IE:1 IEF:12	IE:0 IEF:0	IE:(16%) IEF:(83%)	3
# 5	IE:1 IEF:12	IE:1 IEF:9	IE:0 IEF: 0	_____	IE:(9%) IEF:(91%)	2
# 6	IE:1 IEF:1	IE:1 IEF:11	IE:1 IEF:2	IE:1 IEF:3	IE:(19%) IEF:(81%)	4
# 8	IE:1 IEF:3	IE:1 IEF:0	IE:1 IEF:5	IE:0 IEF: 0	IE:(27%) IEF:(73%)	3
# 9	IE:1 IEF: 1	IE:1 IEF:1	IE:1 IEF: 4	IE:0 IEF: 0	IE:(33%) IEF:(66%)	3
# 12	IE:2 IEF: 1	IE:1 IEF: 0	IE:2 IEF: 1	IE:1 IEF: 0	IE:(66%) IEF:(33%)	4

La unidad A presenta una duración de 174 ± 97.8 s para los machos y de 494 ± 363 s para las hembras, cabe resaltar las diferencias en duración de esta unidad entre sexos. Luego emergen del sustrato, aquí comienza la unidad E, esta unidad tiene una duración de 104.8 ± 63.5 s para las hembras y de 200 ± 349.5 s para los machos, hasta la próxima unidad comportamental. Posteriormente comienza una nueva SEC el macho inicia con DL y la hembra NO (Fig.3). Se obtuvieron siete variantes con diferentes frecuencias. Posteriormente se elaboró un esquema general que muestra el desarrollo de las unidades de mayor frecuencia componentes del cortejo “representación del cortejo”.

(ALEJ) también presentó una frecuencia muy baja, menor a 0.7%, y sólo fue observada en los machos de las parejas 6 y 12.

En las hembras (Fig. 4 b) se destacan algunos circuitos muy claros. La transición más importante ocurre entre Q ↔ NO con una frecuencia de 28% en ambas direcciones (flecha violeta). Otras transiciones frecuentes fueron Q → NE con 7.6% y NE → Q 8%. Mientras que la transición entre Q ↔ AS en ambas direcciones, presenta una frecuencia de 6.5%. Se destaca un único circuito para alcanzar el apareamiento Q → AE → A → E.

a)



b)

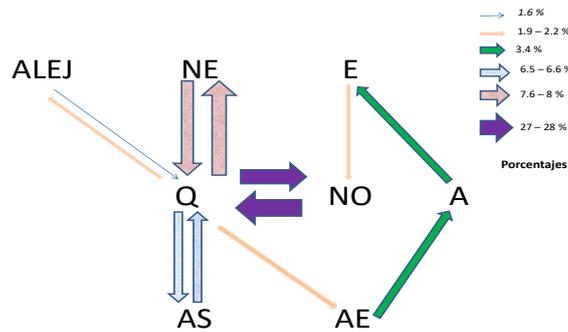


Figura 4. Diagramas de flujo de las unidades de los machos **(a)** y hembras **(b)** de *A. nigripinnis* realizadas durante el cortejo. A (apareamiento), E (enterramiento), DL (despliegue lateral), DS (despliegue sigmoide), IE (invitación al enterramiento), IS (invitación al seguimiento), DLV (despliegue lateral vibrado), Q (quietud), AE (aceptación al enterramiento), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento) y AS (aceptación al seguimiento). El grosor de las flechas representa cuan frecuentes son las transiciones entre las unidades (mayor grosor = mayor frecuencia).

Los valores de frecuencia para los machos fueron: 91.5 ± 55 DL, 51 ± 30 DS, 26.6 ± 20 IS, 5.7 ± 8 IE, 8.2 ± 10 NO, 6.8 ± 15 NE, el resto de las unidades presentaron frecuencia media aún más bajos, menores a 3 (Fig.5). Del total de las unidades realizadas por los machos, DL fue la unidad que presentó mayor frecuencia relativa 43.6%, seguida por DS 24.2%, IS 12.7%, IE 5.6%, NE 4.5% y NO 4%. Las demás unidades A, E, DLV, ALEJ y DSA aparecieron con frecuencias aún más bajas <2%.

Los valores de duración fueron los siguientes: 67 ± 54 A, 61 ± 84.2 E, 47 ± 111 NE, 21 ± 26 IE y con un valor de 9.6 ± 4.2 DL, las restantes unidades presentaron medias con valores aún más bajos, menores a 5 s (Fig. 6). Mientras que los valores de duración relativa mostraron a la unidad A con 29 %, E ocupando el 26.4 % y NE con 23.3%, luego aparece IE con el 9 % y las demás unidades tuvieron una corta duración menor a 4%.

Los valores de frecuencia para las hembras fueron: 41 ± 23 Q, 26 ± 20 NO, 17 ± 4 NE y 6.3 ± 3 AS, las demás unidades presentaron valores de media bajos, menores a 3 (Fig. 5). La unidad que se observó con mayor frecuencia relativa fue Q con 44%, seguida de NO con 28.4%, NE estuvo representada por el 7.5%, luego AS con 6.8%, las unidades AE, A y E con una frecuencia de 2.8% y las unidades DS y ALEJ presentaron frecuencias muy bajas, menores al 2%. La unidad DS es considerada como excepcional, ya que fue realizada únicamente por la hembra de la pareja 1.

Mientras que los valores de duración fueron: 163 ± 78 A, 43 ± 22.4 E, 23 ± 15.4 Q, 11.5 ± 16 NE, el resto de las unidades presentaron valores inferiores a 5 s (Fig. 6). El valor de mayor duración relativa se observó en la unidad A 61.7%, seguida por E 16.3%, Q con 8.7%, NE 7.2% y E 5.4%. El resto de las unidades presentaron valores menores a 5%. En la Fig. 6 se observa la duración (media \pm desvío): 163 ± 78 A, 43 ± 22.4 E, 23 ± 15.4 Q, 11.5 ± 16 NE, y el resto de las unidades presentaron valores inferiores a 5 s.

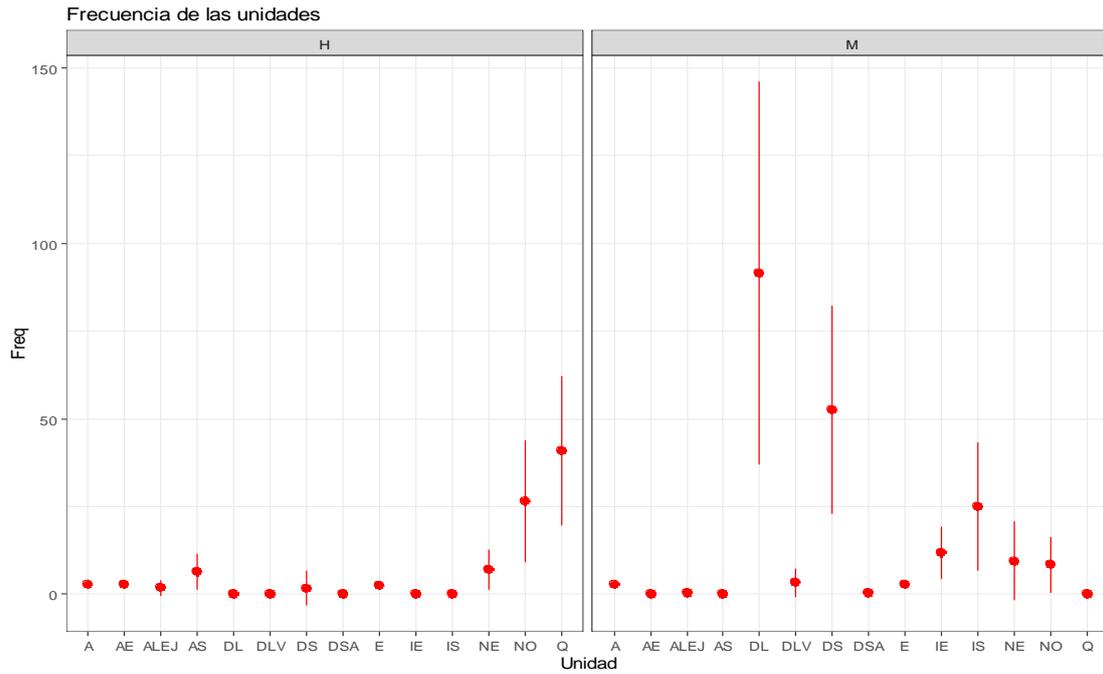


Figura 5. Frecuencia media de las unidades para hembras (H) y machos (M) de *A. nigripinnis* (media \pm desvío estándar). A (apareamiento), E (enterramiento), DL (despliegue lateral), DS (despliegue sigmoide), IE (invitación al enterramiento), IS (invitación al seguimiento), DLV (despliegue lateral vibrado), Q (quietud), AE (aceptación al enterramiento), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento), AS (aceptación al seguimiento) y DSA (despliegue sigmoide abrazador).

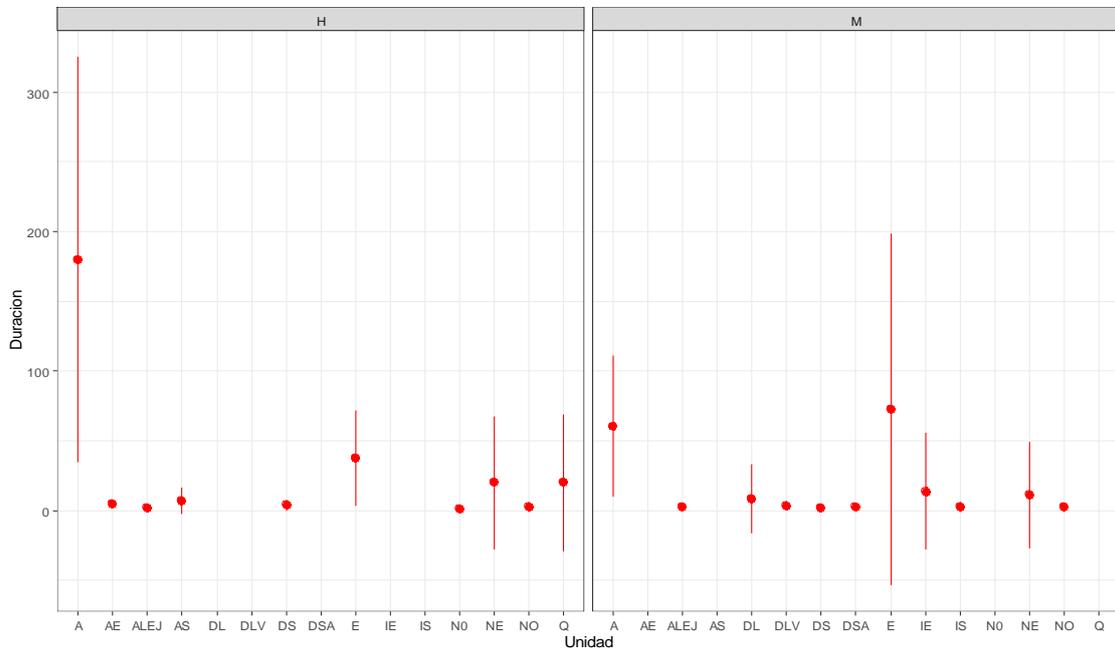


Figura 6. Duración media de las unidades de hembras (H) y machos (M) de *A. nigripinnis* (media \pm desvío estándar). A (apareamiento), E (enterramiento), DL (despliegue lateral), DS (despliegue sigmoide), IE (invitación al enterramiento), IS (invitación al seguimiento), DLV (despliegue lateral vibrado), Q (quietud),

AE (aceptación al enterramiento), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento), AS (aceptación al seguimiento) y DSA (despliegue sigmoide abrazador).

También se analizó duración y frecuencia media de las unidades en las 4 SEC. Para los machos la unidad DL fue la de mayor frecuencia media en todos las SEC. Las SEC1, 2 y 3 mostraron a las unidades DL, DS e IS como las unidades con mayor frecuencia media. El resto de las unidades presentaron valores de media menores a 5. La SEC 4 presentó valores de frecuencia media muy bajos, menores a 3 (Tabla.3).

Tabla 3. Frecuencia (media \pm desvío estándar) de las unidades realizadas por los machos en las 4 SEC. A (apareamiento), E (enterramiento), DL (despliegue lateral), DS (despliegue sigmoide), IE (invitación al enterramiento), IS (invitación al seguimiento), DLV (despliegue lateral vibrado), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento) y DSA (despliegue sigmoide abrazador).

Unidad	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
DL	40,2 \pm 19,5	26,7 \pm 24,3	21,6 \pm 22,1	2,8 \pm 6,9
DS	22,8 \pm 17,6	16,2 \pm 14,8	10,5 \pm 11,8	1,1 \pm 2,4
A	1 \pm 0	1 \pm 0	0,6 \pm 0,5	0,2 \pm 0,4
E	1 \pm 0	1 \pm 0	0,6 \pm 0,5	0,2 \pm 0,4
IE	3,5 \pm 3,9	4,2 \pm 4,3	3,3 \pm 4,1	0,6 \pm 1,4
IS	9,6 \pm 7,3	7,5 \pm 9,7	7,5 \pm 7,7	0,3 \pm 0,7
NO	4,5 \pm 3,8	1,2 \pm 2,1	2,3 \pm 3,5	0,2 \pm 0,8
NE	2,3 \pm 2,2	2,7 \pm 5,9	2,8 \pm 5,1	1,5 \pm 5,3
DLV	2,7 \pm 3,1	0,6 \pm 0,9	0 \pm 0	0 \pm 0
DSA	0 \pm 0	0,2 \pm 0,8	0 \pm 0	0,2 \pm 0,5
ALEJ	1,6 \pm 3,1	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0

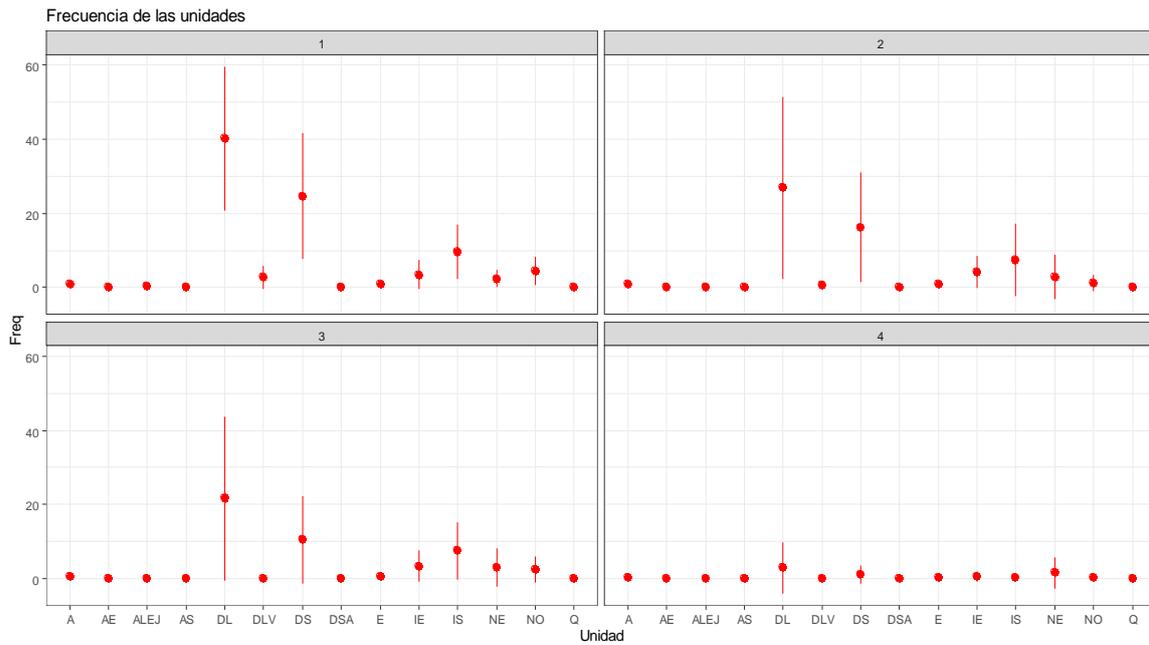


Figura 7. Frecuencia media de las unidades (media \pm desvío estándar) realizadas por los machos en las cuatro SEC. A (apareamiento), E (enterramiento), DL (despliegue lateral), DS (despliegue sigmoide), IE (invitación al enterramiento), IS (invitación al seguimiento), AE (aceptación al enterramiento), Q (quietud), DLV (despliegue lateral vibrado), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento), AS (aceptación al seguimiento) y DSA (despliegue sigmoide abrazador).

Los valores de duración de las unidades para los machos en las cuatro SEC fueron muy variables. La SEC1 fue la de mayor tiempo ocupando 7156 s, seguidos por la SEC 2 con 3625 s, la SEC 3 2259 s y SEC 4 con 582 s. En la SEC1 la unidad A alcanzó la mayor duración media, seguido por NE, IE y E (Tabla 4). Las SEC 2, 3 y 4 presentaron a E y A como las unidades de mayor duración, en tercer y cuarto lugar IE y NE en la SEC 2, NE y DL en la SEC 3 y en la SEC 4 el tercer lugar lo ocupó IE. Las unidades que no se mencionan, ocuparon medias menores a 6 s (Fig. 8).

Tabla 4. Duración en segundos (media \pm desvío estándar) de las unidades de *A. nigripinnis* realizadas por los machos durante el cortejo en las 4 SEC. A (apareamiento), E (enterramiento), DL (despliegue lateral), DS (despliegue sigmoide), IE (invitación al enterramiento), IS (invitación al seguimiento) DLV (despliegue lateral vibrado), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento) y DSA (despliegue sigmoide abrazador).

Unidad	Bloque 1	Bloque2	Bloque3	Bloque4
DL	3,2 \pm 7	6,1 \pm 2	5,6 \pm 3,7	4,9 \pm 5
DS	2,6 \pm 1,3	2,1 \pm 0,9	1,5 \pm 0,3	1,7 \pm 1
A	71,2 \pm 80	66,5 \pm 31	40,2 \pm 20	45 \pm 12,7
E	22,3 \pm 20,4	101 \pm 167	102 \pm 174	102,5 \pm 114
IE	33,7 \pm 71	16,4 \pm 21	5 \pm 3	10,2 \pm 6,7
IS	3,9 \pm 3,4	1,7 \pm 0,6	2,7 \pm 0,6	2 \pm 1
NO	2 \pm 0,8	5,1 \pm 7	1,6 \pm 0,5	1,5 \pm 0
NE	59,1 \pm 129	13 \pm 17	15,3 \pm 16,6	4 \pm 0
DLV	5 \pm 3	2,1 \pm 2	0 \pm 0	0 \pm 0
DSA	0 \pm 0	2,5 \pm 0	0 \pm 0	4 \pm 0
ALEJ	3,6 \pm 3,3	3,6 \pm 3,3	0 \pm 0	0 \pm 0

Para las hembras la unidad Q fue la que presentó mayor valor de frecuencia media en las cuatro SEC (Fig.9). Las unidades se distribuyeron de la siguiente manera: SEC1, 2 y 3 mostraron a las unidades Q, NO y NE (orden descendente) como las unidades con mayor frecuencia media. El resto de las unidades presentaron valores menores a 3. En la SEC4 todas las unidades se caracterizaron por tener valores de media muy bajos, menores a 1 (Tabla5).

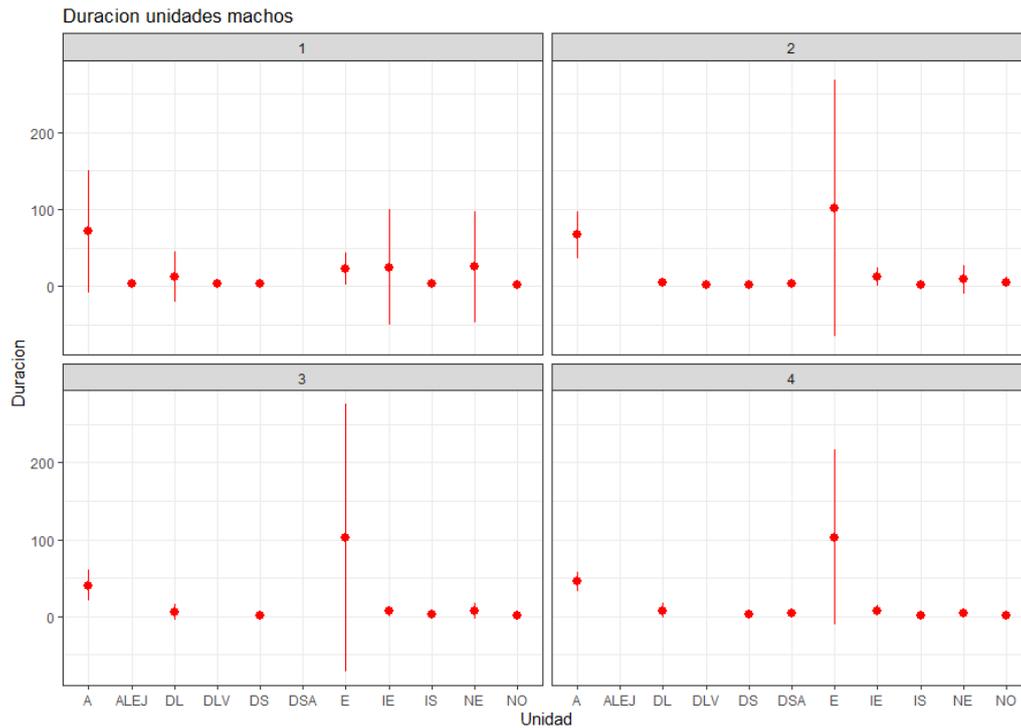


Figura 8. Duración en segundos de las unidades (media \pm desvío estándar) realizadas por los machos en las 4 SEC. A (apareamiento), E (enterramiento), DL (despliegue lateral), DS (despliegue sigmoide), IE (invitación al enterramiento), DLV (despliegue lateral vibrado), IS (invitación al seguimiento), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento) y DSA (despliegue sigmoide abrazador).

Tabla 5. Frecuencias (media \pm desvío estándar) de las unidades realizadas por las hembras en las 4 SEC. A (apareamiento), E (enterramiento), DS (despliegue sigmoide), Q (quietud), AE (aceptación al enterramiento), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento) y AS (aceptación al seguimiento).

Unidad	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
Q	21,1 \pm 13,7	8,2 \pm 6,5	11,2 \pm 14,4	0,4 \pm 0,4
AE	1 \pm 0	1 \pm 0	0,6 \pm 0,5	0,2 \pm 0,4
AS	2,8 \pm 3,3	1,2 \pm 1,6	2,2 \pm 3,6	0 \pm 0
E	1 \pm 0	1 \pm 0	0,5 \pm 0,5	0,4 \pm 0,2
A	1 \pm 0	1 \pm 0	0,6 \pm 0,5	0,4 \pm 0,2
NO	11,6 \pm 10,2	6,7 \pm 5,7	7,8 \pm 11,3	0,2 \pm 0,4
NE	7,7 \pm 11	2,2 \pm 3,3	2,4 \pm 3,8	0 \pm 0
ALEJ	1,1 \pm 1,3	0,3 \pm 1	0,3 \pm 0,5	0 \pm 0
DS	1,7 \pm 4,9	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0

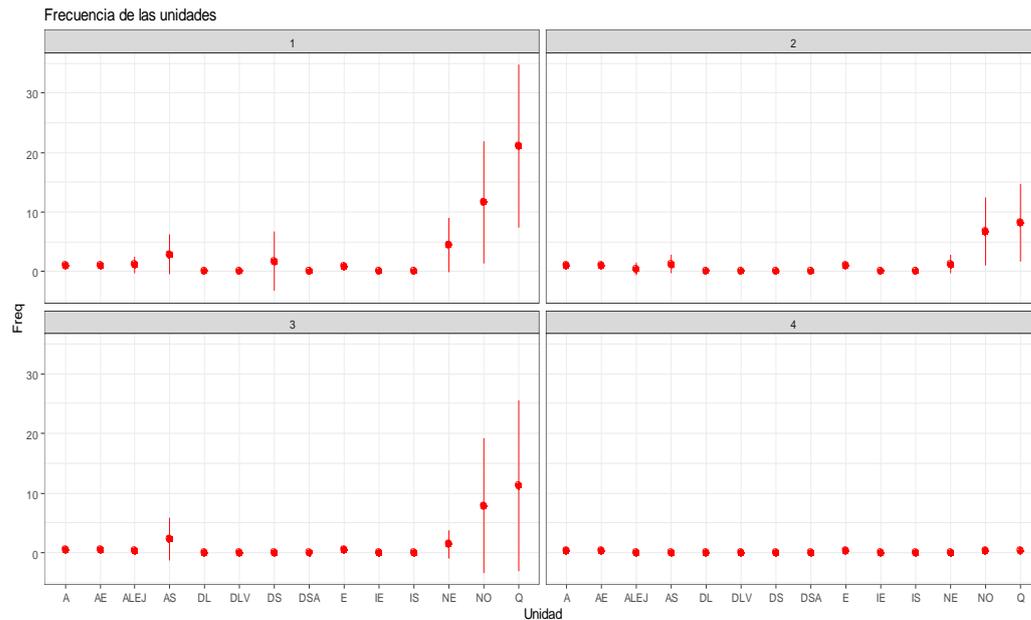


Figura 9. Frecuencia de las unidades (media \pm desvío estándar) realizadas por las hembras en las 4 SEC. A (apareamiento), E (enterramiento), DL (despliegue lateral), DS (despliegue sigmoide), IE (invitación al enterramiento), DLV (despliegue lateral vibrado), Q (quietud), AE (aceptación al enterramiento), IS (invitación al seguimiento), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento), AS (aceptación al seguimiento) y DSA (despliegue sigmoide abrazador).

En lo que respecta a la duración que ocupó cada SEC, al igual que para los machos es variable. La SEC 1 ocupó 7620 s, la SEC 2 3444 s, SEC 3 2038 s y la SEC 4 503 s. Se observó que la unidad A presentó los valores de duración media más elevados (Tabla. 6). La primer SEC mostró la secuencia A, Q, E, NE y AS como las unidades de mayor duración. En la SEC 2 se vio a la unidad A, seguida por E, Q y AS. Mientras que la SEC 3 presenta a las unidades A, E, AS, Q y AE. Por último, la SEC 4 presentó la secuencia A, E, Q y AE (Fig. 10).

Tabla 6. Duración en segundos (media \pm desvío estándar) de las unidades realizadas por las hembras durante el cortejo en las 4 SEC. A (apareamiento), E (enterramiento), DS (despliegue sigmoide), Q (quietud), AE (aceptación al enterramiento), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento) y AS (aceptación al seguimiento).

Unidad	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
Q	38 \pm 39,1	19,5 \pm 14,2	7,8 \pm 3,8	13 \pm 7
AE	3,3 \pm 1,8	4,1 \pm 1,5	6 \pm 3,3	7,5 \pm 0,7
AS	8,4 \pm 4,8	8,8 \pm 6,3	9 \pm 10,8	0 \pm 0
A	120 \pm 109,6	230 \pm 171	217 \pm 162,5	142 \pm 131
E	32 \pm 26	40 \pm 30,8	51,7 \pm 58,4	44 \pm 53,7
NO	3,8 \pm 2,2	2,2 \pm 0,8	2,4 \pm 1,6	5 \pm 0
NE	19,3 \pm 21,2	4,3 \pm 2,5	0 \pm 0	0 \pm 0
ALEJ	1,6 \pm 0,2	2,6 \pm 0	1 \pm 0	0 \pm 0
DS	3,7 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0

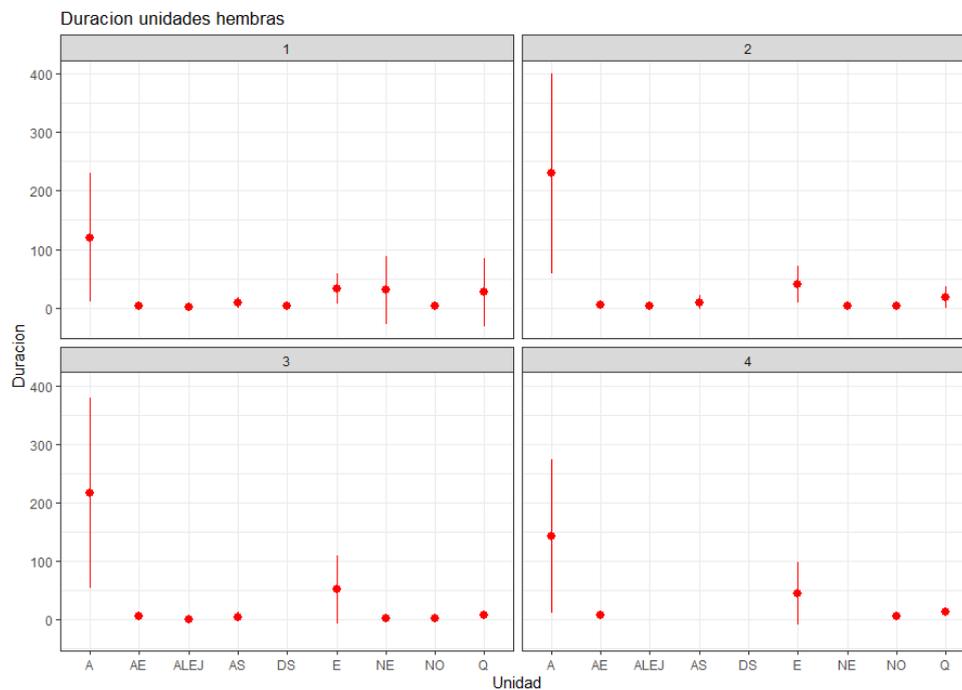


Figura 10. Duración de las unidades (media \pm desvío estándar) realizadas por las hembras en las 4 SEC. A (apareamiento), E (enterramiento), DS (despliegue sigmoide), Q (quietud), AE (aceptación al enterramiento), NO (nado orientado), NE (nado errático), ALEJ (alejamiento) y AS (aceptación al seguimiento).

Para determinar la variación intraespecífica se analizó la frecuencia y duración absoluta de cada unidad por SEC para ambos sexos (Anexo; Tablas. A. (M) y (H)). La totalidad de los machos realizaron las unidades A, DL, IE, E, DS y NO. Las unidades A, DL, IE y E se encontraron en las 23 SEC. La unidad DS en 22 SEC y NO en 14 SEC, todas con una gran variabilidad. Por su parte las unidades IS y NE fueron realizada por 7 de los 8 machos, IS en 18 SEC y NE en 13 SEC (Anexo; Tablas. A. 3 y A.9). La unidad DLV formó parte de los despliegues de 5 machos y ocupó 8 SEC (Anexo; Tabla. A.7). La unidad ALEJ fue realizada por 2 machos y DSA solamente un macho, ambas con frecuencias muy bajas (Anexo; Tablas. A. 10 y A.11).

Poniendo el foco en las unidades DL y DS, se observó que la mayoría de los machos realizaron su mayor frecuencia y duración en las primeras 2 SEC. Existe una tendencia aparente de estas unidades a disminuir su frecuencia y duración con el paso de las SEC. La unidad DL presentó la excepción en el macho #4 cuya frecuencia y duración fueron máximas en la SEC 3, mientras que la unidad DS realizada por el macho #3 también presentó un aumento de frecuencia y duración en la SEC 4.

Todas las hembras realizaron las unidades A, AE, Q y NO en las 23 SEC, la unidad E en 22 SEC. La unidad NE fue realizada por 7 hembras en 13 SEC, mientras que AS se encontró en los despliegues de 6 hembras, ocupando 12 de SEC (Anexo; Tablas. A. 14 y A. 15). Por su parte la unidad ALEJ fue realizada por 5 hembras, en 8 SEC (Anexo; Tabla. A. 18) y únicamente 1 hembra ejecutó la unidad DS en 1 SEC (Anexo; Tabla. A. 19). Excepto las unidades A, E, AS se observó una gran variabilidad en las frecuencias de aparición de las unidades entre las hembras de las 8 parejas.

Discusión

El análisis del comportamiento reproductivo de *Austrolebias nigripinnis* a través de la secuenciación y cuantificación de las unidades comportamentales reveló que los machos realizan intensos despliegues, mientras que las hembras adoptan un rol más evaluador. Las unidades que se observaron en este estudio, se correspondieron con las descritas para otras especies del mismo género (Vaz Ferreira & Sierra 1973; García *et al.*, 2008). Además, se identificó la unidad Alejamiento (ALEJ) para ambos sexos, la cual fue definida por (Librán, 2011) para *A. affinis*.

Los trabajos de García *et al.*, 2008 sobre *A. reicherti* y Librán, 2011 en *A. affinis* reportan que la unidad más frecuente fue el despliegue lateral, seguida por la invitación al enterramiento. Posteriormente en un análisis comparativo entre especies del subclado “affinis” en los que se incluía a *A. nigripinnis*, *A. alexandri* y *A. affinis*, también se documenta que DL es la unidad más frecuente, en segundo lugar, se ubicó la IE, excepto para *A. nigripinnis* donde esta unidad presenta una frecuencia relativa de (6%) y su duración es de 10s (García, 2013). Estos valores, concuerdan con los obtenidos en este trabajo. Los machos de *A. nigripinnis* exhiben menor frecuencia de invitaciones al enterramiento que los machos de las otras especies: 5 veces menos que los machos de *A. reicherti*, la mitad que *A. affinis* y menos de la mitad que *A. alexandri*.

Es especialmente interesante analizar las diferencias entre *A. nigripinnis* y *A. alexandri* ya que estas especies habitan en simpatria en parte de su distribución. La especiación ecológica es una de las causas postuladas para la especiación simpátrica (Shluter, 1998; Mc Cune & Lovejoy, 1998). Sin embargo, ambas especies no parecen tener diferencias a nivel ecológico y las diferencias radican básicamente en los patrones de pigmentación de los machos (Loureiro, 2004). La otra fuerza evolutiva invocada en este contexto simpátrico es la selección sexual (Johnson & Gullberg, 1998). Los individuos que habitan en simpatria con otros de especie diferente, sobre todo cuando su parentesco es muy cercano, tienen que adoptar barreras a la reproducción, para evitar apareamientos híbridos desventajosos (Ridley, 2004). La descripción detallada de todas las unidades que componen el cortejo de *A. nigripinnis* aportados en este trabajo, también contribuyen a la comprensión de la filogenia del grupo y pueden ser útiles para establecer relaciones de parentesco entre las especies

Por otro lado, al comparar con *A. alexandri* García (2013), *A. nigripinnis* presenta menor frecuencia de Despliegue lateral, pero mayor frecuencia de Despliegue sigmoide. Sin embargo, las dos unidades presentan mayor duración. El Despliegue sigmoide abrazador, una unidad característica de *A. alexandri* (García, 2013), también fue observada en *A. nigripinnis*, aunque con una frecuencia muy baja. En este trabajo la Invitación al seguimiento es una unidad frecuente, aunque de corta duración y no es mencionada en el trabajo de García. Otra unidad observada en *A. nigripinnis* es el Despliegue lateral vibrado, que, aunque presenta baja frecuencia, fue realizada por la mayoría de los machos. García (2013) les asigna a las especies del grupo “affinis” la capacidad de realizar el DLV, en baja frecuencia.

Por su parte las hembras de *A. nigripinnis* presentan las unidades apareamiento y espera con una duración tres veces mayor que *A. alexandri* (Librán, 2011; García, 2013). García (2013) describe para *A. nigripinnis* y *A. alexandri* los despliegues DLA y DSA, estas unidades no fueron exhibidas por las hembras de *A. nigripinnis* en este trabajo.

Se puede observar una tendencia a que *A. nigripinnis* difiere su cortejo de *A. alexandri* por diferencias en la frecuencia y duración de algunas unidades, así como la presencia de algunas unidades en una especie y ausente en la otra. Estas diferencias podrían ser el resultado de la coexistencia en simpatría. Para poder determinar esto, sería necesario realizar estudios poblacionales, comparando el cortejo de poblaciones en alopatría con poblaciones en simpatría. De esta forma se podría determinar si existe un desplazamiento de caracteres reproductivos de estas especies, como fue reportado para el par de especies hermanas *A. reicherti*, y *A. charrua* en sus patrones de coloración y bandeo (Passos, 2013). También esta divergencia de caracteres y preferencias sexuales en simpatría podría estar relacionada al modelo de reforzamiento (Howard, 1993; Noor, 1999).

Los altos porcentajes de frecuencia en los Despliegues lateral y sigmoide en *A. nigripinnis*, podrían indicar que los machos invierten mucha energía en las exhibiciones para lograr la aceptación de las hembras. Si bien seis de las ocho hembras rechazan más del doble de las IE antes de aceptar el enterramiento, igualmente la cantidad de IE realizadas por *A. nigripinnis* en comparación con las especies *A. reicherti*, *A. alexandri* y *A. affinis* es menor. Solo un macho logró que todas sus Invitaciones al enterramiento sean aceptadas por la hembra. Probablemente las señales exhibidas previas a la IE, sean determinantes en lograr este nivel de aceptación. También podrían incidir las condiciones de la hembra y características del macho, tanto las hembras de *A. charrúa* (Passos *et al.*, 2013) como los machos de *A. reicherti* (Passos *et al.*, 2019) eligen pareja en función del tamaño. Al analizar la frecuencia absoluta de las unidades realizadas por este individuo, se observan valores similares a los otros machos, a excepción de la unidad DLV. Esta unidad fue definida como una variación del DL, se caracteriza por la vibración de sus aletas impares extendidas (García, 2013), estas vibraciones, además de atraer visualmente, podría tener efecto sobre los canales acústicos de la hembra. Como ya se ha mencionado, los despliegues de cortejo de los machos de *A. reicherti* podrían verse asociados a la generación de señales mecánicas y a la dispersión de pistas químicas (Reyes, 2012; Passos *et al.*, 2013). Recientemente se demostró la existencia de comunicación química en *A. reicherti*, cuando las hembras son expuesta a señales olfativas, estas pueden discriminar entre machos coespecíficos y

heteroespecíficos de la especie hermana *A. charrua* (Reyes *et al.*, 2018). Sería interesante analizar la presencia de sustancias químicas en el agua, ya que probablemente los machos de *A. nigripinnis* liberen feromonas que estimulen el canal químico de las hembras. Durante el desarrollo del cortejo de *A. nigripinnis* se puede observar a los machos realizando vibraciones de sus aletas impares a través del despliegue lateral, despliegue lateral vibrado y la invitación al enterramiento. También, el despliegue sigmoide realiza movimientos en zig zag de su cuerpo. Posiblemente estas vibraciones y movimientos ondulatorios estimulen los mecanorreceptores ubicados a lo largo del sistema de la línea lateral de las hembras (García *et al.*, 2008). Es probable que los canales de comunicación que intervienen en el cortejo de *A. nigripinnis* sean múltiples, y complementen a los estímulos visuales analizados en este trabajo. Estos resultados apoyarían la hipótesis de señales de respaldo propuesta por Johnstone (1996), la cual indica que señales múltiples permiten una evaluación más precisa de la condición del emisor. Existe evidencia sobre la existencia de señales de respaldo en el cortejo de peces, a través de los canales químicos o acústicos (Hankison & Morris, 2003; Belote & Costa 2002). Se encuentra ampliamente documentado que las pistas químicas juegan un rol particularmente importante en el reconocimiento de coespecíficos y pueden, por tanto, servir de mecanismo de aislamiento reproductivo entre especies cercanas (McLennan y Ryan, 1997, 1999; Rafferty y Boughman, 2006; Wong *et al.*, 2005).

Al observar la frecuencia media por SEC en los machos se puede apreciar que las unidades siguen un patrón general. Presentan su mayor frecuencia en las primeras SEC y disminuye al aumentar el número de estas, destacándose el Despliegue lateral como la unidad de mayor frecuencia media en las cuatro SEC, seguida por el Despliegue sigmoide. En general la duración media también presenta este patrón, excepto la unidad Espera que incrementa su duración al avance de las SEC. Esto podría indicar que, al inicio del cortejo, los machos dedican altos porcentajes de tiempo y en forma muy frecuente a la atracción. Luego de alcanzar los primeros apareamientos ocurre una especie de “desgaste” en su energía que explicaría la baja en la frecuencia y duración de los despliegues, así como el aumento significativo del tiempo de Espera de los machos hasta el próximo despliegue. También resulta interesante lo que sucede con las hembras, estas siguen el mismo patrón de frecuencia media que los machos, destacándose la unidad Q como la más frecuente en todas las SEC. Las hembras destinan la mayor parte de su tiempo en el Apareamiento, el Enterramiento y la Quietud. Cabe destacar que las unidades A y E incrementan su duración al pasaje de las SEC, quizás asociado al “desgaste” mencionado anteriormente. A diferencia

de éstas, la Q disminuye al pasaje de las SEC. Esta disminución podría asociarse al rol evaluatorio de la hembra, el cual necesariamente es realizado al inicio del enfrentamiento con el macho.

La Quietud es una unidad muy frecuente y con gran duración en las hembras, se ha sugerido que ésta podría estar cumpliendo un papel evaluatorio durante el cortejo (García *et al.*, 2008). Se sabe que hay asimetrías entre sexos en el costo que supone elegir un compañero inadecuado. Una hipótesis derivada de la teoría de inversión parental de (Trivers, 1972) postula que siempre habrá un sexo que pagará más caro el hecho de hacer una mala elección. En la mayoría de las especies, las hembras invierten mucho más que los machos en el proceso reproductor (Eberhard, 1996; Møller y Thornhill, 1998). Una correcta elección de los machos por parte de las hembras es fundamental a la hora de asegurar el éxito reproductivo. Existe evidencia que las hembras de *A. bellotii*, especie del mismo género que *A. nigripinnis* poseen muy pocos óvulos, ponen entre 8 y 12 huevos por día (Simpson, 1979). Esto podría interpretarse como un factor limitante del apareamiento.

Si bien el porcentaje de tiempo ocupado por la unidad Quietud en las hembras de *A. nigripinnis* analizadas en este trabajo es menor a las especies *A. reicherti*, *A. alexandri*, *A. affinis* apoyaría lo sugerido por García *et al.* (2008) respecto a la existencia de un importante rol evaluatorio de las hembras durante el cortejo. Se asume, de forma casi general, que son las hembras las que llevan el peso de la selección sexual, y por ello los machos presentan estructuras corporales conspicuas que den muestra de su capacidad de proporcionar recursos, como indicativos fidedignos de sus buenos genes y/o indicadores de su buena calidad (Kirkpatrick, 1982; Bisazza *et al.*, 1989; Turner, 1995; Kodric-Brown y Nicoletto, 2001) así como una mayor inversión energética en las pautas de cortejo (Maier, 2001).

El análisis cuantitativo de las secuencias denominadas puntos calientes de cortejo, reveló siete circuitos diferentes. De estos, el más frecuente muestra en general similitud con los esquemas elaborados por García (2008) y Librán (2011). El esquema elaborado en este trabajo se diferencia con los de *A. reicherti* y *A. charruade* García (2008) y de *A. affinis* (Librán, 2013) por la ausencia de la unidad Invitación al seguimiento en los machos y aceptación al seguimiento en las hembras. Ya que estas unidades fueron observadas solo en algunos individuos de ambos sexos y no forman parte del circuito más frecuente. Las hembras se diferencian por realizar la unidad Nado orientado posteriormente a la Espera y antes de volver a la Quietud, mientras los esquemas de *A. reicherti*, *A. charruay* *A. affinis* luego del enterramiento pasan a la Quietud.

Los diagramas de flujo aportan una visión general de las transiciones más frecuentes y como las unidades se relacionan entre sí. Los altos porcentajes de transiciones observadas en los machos entre las unidades Despliegue lateral y Despliegue sigmoide en ambas direcciones, puede indicar que el macho intenta atraer a la hembra con estos despliegues, si lo logran realizan la Invitación al enterramiento y alcanzan el apareamiento. En el caso que no lo logre, retoma sus despliegues, realiza la unidad Invitación al seguimiento buscando atraer a la hembra, y puede alcanzar el apareamiento (muy baja frecuencia). Prácticamente todas las unidades están conectadas con los despliegues lateral y/o sigmoide. Excepto la unidad Apareamiento, la cual, está ligada directamente a la Invitación al enterramiento, el estímulo visual sería el que lleva al apareamiento, si bien podrían estar actuando otros estímulos (Reyes *et al.*, 2018).

Cabe destacar la existencia de caracteres que son más conservados que otros, que presentan mayor variabilidad sobre todo en frecuencia. En este caso, la Invitación al enterramiento es una unidad muy conservada porque es la unidad que lleva a que la pareja se entierre y deposite sus huevos dentro del sustrato, característica de todas las especies del grupo (García, 2013). Las transiciones de las unidades en las hembras muestran a Quietud y Nado orientado con mayores porcentajes. Es evidente que la Quietud es la unidad más importante; prácticamente todas las unidades establecen algún punto de contacto con ella. Es notorio que para alcanzar el apareamiento se debe atravesar inevitablemente por la quietud.

El análisis de la frecuencia y duración absoluta para machos y hembras en las 23 SEC evidencian la variación intraespecífica de la especie. Si bien se observa que DL, DS, IE, A y E son unidades realizadas por todos los machos, prácticamente en el 100% de las SEC, hubo diferencias en la cantidad de Apareamientos alcanzados, algunos logran 2, otros 3 y 4 SEC. Las unidades IS, DLV, DSA y ALEJ, no forman parte del repertorio de todos los machos. La frecuencia y duración de todas las unidades es muy variable.

Del mismo modo se puede observar que las unidades Q, NO, AE, A y E son realizadas por todas las hembras y están presentes en casi la totalidad de las SEC. Mientras que las unidades AS, NE, ALEJ y DS son realizadas solo por algunas hembras. El Despliegue sigmoide observado solo en una de las hembras, posiblemente sea utilizado con la finalidad de estimular al macho poco activo. Un comportamiento similar denominado “exhibición” había sido descrito para las especies *A.reichertii* y *A.charrua* (García, 2005).

En este trabajo se describió el comportamiento de cortejo de *A. nigripinnis*, el cual presenta similitudes y diferencias con otras especies como *A. alexandri*, *A. affinis* y *A. reicherti*. Esto muestra afinidad filogenética, pero también identidad propia. Estudiar el cortejo nos brinda información sobre comportamientos generales del grupo y evidencia mecanismos de aislamiento. Barrow (2002) afirma que el cortejo es vital para el reconocimiento entre las especies y a menudo conforma la primera barrera contra la hibridación. Este trabajo no puede determinar que las diferencias en frecuencia y duración de las unidades comportamentales constituyan mecanismos de aislamiento reproductivo. Para determinar esto habría que realizar otro tipo de estudios, por ejemplo, apareamientos cruzados. Si dos especies no se cruzan porque difiere su cortejo, entonces el cortejo de al menos una de ellas debe haber sufrido un cambio evolutivo que la diferencie (Ridley, 2004). Es por esto, que cada vez más las señales de apareamiento son utilizadas en la identificación de especies (Butlin & Ritchie, 1994).

Las distribuciones geográficas muy restringidas (Costa, 2006; Loureiro *et al.*, 2011), el corto tiempo generacional (menor a un año), el hábitat fragmentado que favorece la baja vagilidad, el aislamiento poblacional, la inestabilidad genómica (García *et al.*, 2001) y la acción de la selección sexual; sumadas a la facilidad de mantenimiento de los peces en laboratorio, hacen de estos animales un excelente modelo biológico para estudios acerca de diferenciación intraespecífica y especiación. A pesar de la gran importancia de este grupo, aún la información es escasa para alcanzar una hipótesis robusta acerca de las relaciones de parentesco entre las especies (Filogenia) así como sobre los mecanismos de aislamiento reproductivo que operan en este grupo, tanto a niveles precigóticos (cortejo y selección sexual) como postcigóticos. Trabajos de este tipo aportan elementos fundamentales para poder resolver la complejidad implícita en la definición de especie.

Perspectivas

Esta tesis, aporta al conocimiento del comportamiento reproductivo de *A. nigripinnis*. Aún queda mucho por hacer. Sería necesario aumentar el número de parejas, ya que solamente ocho fueron las que lograron “secuencias exitosas completas del cortejo”, así como investigar cuales son las diferencias que existen entre las parejas que logran SEC y las que no. Restaría analizar si existieron diferencias entre los despliegues desarrollados en el cortejo de los machos que lograron aparearse y los que no, para determinar el grado de importancia de algunos despliegues sobre otros. Este escenario queda planteado y abre la posibilidad de que en futuros trabajos se tome en consideración.

Los peces del género *Austrolebias* habitan cuerpos de agua de poca profundidad, en ocasiones con características de sustrato lodoso, elevada y turbidez, alta densidad de vegetación (Reyes, 2012). En este ambiente visualmente empobrecido, señales no visuales podrían jugar un rol de relevancia durante las distintas etapas del comportamiento sexual, como en la detección y reconocimiento de parejas potenciales (Doving, 1976; Chapman *et al.*, 2010). Sin embargo los despliegues de cortejo y coloración de los machos sugieren que las señales visuales juegan un rol importante en la elección de pareja en esta especie. Sería necesario, realizar análisis de preferencia de apareamiento de las hembras y así determinar la posible comunicación por otras vías que no fueron tomadas en cuenta en este trabajo. Análisis de preferencias de apareamiento realizados en la especie *A. reicherti* exhiben que las hembras prefieren a los machos de mayor tamaño corporal (Passos *et al.*, 2013).

Las características de turbidez del agua en los charcos no son constantes, existen variables externas que pueden alterar dicha condición. Sería necesario investigar cómo influyen las características del ambiente en el cortejo de *A. nigripinnis*, por ejemplo, agua clara vs agua turbia y analizar cómo responden los individuos a las distintas situaciones y qué tipo de señales son utilizadas.

Debido a su alto nivel de endemismo y su frágil hábitat, se puede considerar a esta especie cómo vulnerables a procesos antrópicos como el cambio climático y uso de la tierra que podrían amenazar la persistencia de sus poblaciones (Loureiro *et al.*, 2007; Reis & Lima, 2008).

Referencias bibliográficas

- Barlow GW. 2002. How behavioral studies contribute to the species problem: a piscine perspective. *Fish and Fisheries*. 3:197-212.
- Belote DF & WJEM Costa. 2002. Reproductive behavior patterns in the Neotropical annual fish genus *Symptsonichthys* Carvalho, 1959 (Cyprinodontiformes, Rivulidae): description and phylogenetic implications. *Bol. Mus. Nac., N.S., Rio de Janeiro*. 489:1-10.
- Belote DF & WJEM Costa. 2003. Reproductive behavior of the Brazilian annual fish *Cynolebias albipunctatus* COSTA & BRASIL, 1991 (TELEOSTEI, 54 CYPRINODONTIFORMES, RIVULIDAE): a new report of sound production in fishes. *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*. 61(4):241-244
- Berois N, MJ Arezo, NG Papa, GA Clivio. 2012. Annual fish: developmental adaptations for an extreme environment. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 1(4): 595-602.
- Berois N, García G, & De Sá R. O. Eds. 2015. Annual fishes: life history strategy, diversity, and evolution. CRC Press.
- Bisazza A, Marconato A & Marin G. 1989. Male competition and female choice in *Padogobius martensi* (Pisces, Gobiidae). *Animal Behaviour*, 38(3), 406-413.
- Butlin R & M Ritchie. 1994. Behavior and speciation. En: *Behavior and Evolution*. (PJ Slater y TR Halliday eds.) Cambridge University Press, Cambridge.
- Cardozo V. 1999. Tasa Metabólica y excreción del nitrógeno en peces anuales *Cynolebias viarius* (Cyprinodontiformes). Tesis de Maestría. PEDECIBA, Universidad de la República, Montevideo.
- Chapman B. B, Morrell L. J, Tosh C. R, & Krause J. 2010. Behavioral consequences of sensory plasticity in guppies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1686): 1395-1401.
- Costa WEJM. 1998. Phylogeny and classification of Rivulidae revisited: origin and evolution of annualism and miniaturization in Rivulid fishes Cyprinodontiformes: Aplocheiloidei). *Journal of Comparative Biology* 3(1): 33- 94.

- Costa WEJM. 2006. The South American annual killifish genus *Austrolebias* (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae): phylogenetic relationships, descriptive morphology and taxonomic revision. *Zootaxa* 1213: 1–162.
- Costa WJEM. 2008. Catalog of Aplocheiloid killifishes of the World. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Costa WJEM. 2010. Historical biogeography of cynolebiasine annual killifishes inferred from dispersal-vicariance analysis. *Journal of Biogeography*. 37: 1995-2004.
- Darwin C. 1872. The origin of species by means of natural selection. 6th ed. -London: John Murray.
- Doving K. 1976. Evolutionary trends in olfaction. En G. Benz (Eds.) *The Structure-Activity Relationships in Olfaction* (pp.149-159). IRL Press, London.
- Eberhard W.G. 1996. *Females control: Sexual selection by cryptic female choice*. Monographs in behavior and ecology. Princeton University Press. Princeton.
- Errea A. & Danulat E. 2001. Growth of the annual fish, *Cynolebias viarius* (Cyprinodontiformes), in the natural habitat compared to laboratory conditions. *Environment Biology of Fishes*. 61:261-268.
- García D. 2005. Análisis del comportamiento reproductivo de dos especies del género *Austrolebias* Costa (Cyprinodontiformes, Rivulidae) (No. 597.5 GAR). Tesis de Grado. Universidad de la República, Montevideo.
- García D, Loureiro M & Tassinio B. 2008. Reproductive behavior in the annual fish *Austrolebias reicherti* Loureiro & García 2004 (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Neotropical Ichthyology*, 6(2): 243-248.
- García D. 2013. Señales de cortejo como caracteres filogenéticos en peces anuales Tesis de Maestría. PEDECIBA, Universidad de la República, Montevideo.
- Gittleman JL & DM Decker. 1994. The Phylogeny of Behavior. En: *Behavior and Evolution*. P.J.B. Slater & T.R. Halliday (Eds.) Cambridge University Press. 80- 104.
- Hankinson SJ & MR Morris. 2003. Avoiding a compromise between sexual selection and species recognition: female swordtail fish assess multiple species-specific cues. *Behavioral Ecology* 14 (2): 282-287.

- Higashi M, Takimoto G & N Yamamura. 1999. Sympatric speciation by sexual selection. *Nature* 402:523–526.
- Howard DJ. 1993. Reinforcement: origin, dynamics, and fate of an evolutionary hypothesis. En: *Hybrid zones and the evolutionary process* (Harrison RG, eds). Oxford: Oxford University Press: 46-69.
- Johnson P. A. & U. Gullberg. 1998. Theory and Models of Sympatric Speciation. En “Endless forms. Species and speciation” (Howard D. J, & S. H. Berlocher, eds). Oxford University Press, New York.
- Johnstone RA. 1996. Multiple displays in animal communication: “backup signals” and “multiple messages”. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 351:329-338.
- Kirkpatrick, M. (1982). Sexual selection and the evolution of female choice. *Evolution*, 1-12.
- Kodric- Brown A. & P. F. Nicoletto 2001. Age and experience affect female choice in the guppy (*Poecilia reticulata*)
- Libran F. 2011. Comportamiento reproductivo en los peces anuales *Austrolebias affinis* Amato 1986. Tesina de grado, Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad de la República. Montevideo.
- Lorenz K. 1950. The comparative method in studying innate behavior patterns. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 4:221-268.
- Lorenz K. 1958. The evolution of behavior. *Scientific American.* 199:67-78.
- Loureiro M. 2004. Sistemática y biogeografía de los peces anuales de la subtribu Cynolebiatina (Cyprinodontiformes: Rivulidae, Cynolebiatinae). Tesis de Doctorado. PEDECIBA. Universidad de la República. Montevideo.
- Loureiro M, F Teixeira de Mello, A D’Anatro & V Cardozo 2007. *Austrolebias cinereus*, Critically Endangered Species of annual fish from Uruguay. IUCN Red List. Versión 2007.1. <www.iucnredlist.org>.
- Loureiro M, A Duarte & M Zarucki. 2011. A new species of *Austrolebias* Costa (Cyprinodontiformes: Rivulidae) from northeastern Uruguay, with comments on distribution patterns. *Neotropical Ichthyology.* 9(2): 335-342.
- Loureiro M, Sá R. D, Serra S. W, Alonso F, Lanés L. E. K, Volcan M. V, & García G. 2018. Review of the family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) and a

- molecular and morphological phylogeny of the annual fish genus *Austrolebias* Costa 1998. *Neotropical Ichthyology*, 16(3): 1-20.
- Maier R. 2001. *Comportamiento animal, un enfoque evolutivo y ecológico*. McGraw-Hill. Madrid. 582 pp.
- Masta SE & WP Maddison. 2002. Sexual selection driving diversification in jumping spiders. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:4442–4447.
- McCune A. R. & N. R. Lovejoy. 1998. The relative rate of sympatric and allopatric speciation in fishes: test using DNA sequence divergence between sister species. En “Endless forms. Species and speciation” (Howard D. J, & S. H. Berlocher, eds). Oxford University Press, New York.
- McLennan D. A & Ryan, M. J. 1997. Responses to conspecific and heterospecific olfactory cues in the swordtail *Xiphophorus cortezi*. *Animal Behavior*. 54:1077-1088.
- McLennan D. A & Ryan, M. J. 1999. Interspecific recognition and discrimination based upon olfactory cues in northern Swordtails. *Evolution*, 53(3): 880-888.
- Møller A. & R. Thornhill. 1998. Male parental care, differential parental investment by females and sexual selection. *Animal Behavior*, 55(6):1507-1515.
- Noor MAF. 1999. Reinforcement and other consequences of sympatric. *Heredity* 83: 503-508.
- Passos C, Reyes F, Tassinio B, Rosenthal G. G. & Gonzalez A. 2013. Female annual killifish *Austrolebias reicherti* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) attend to male chemical cues. *Ethology*, 119(10): 891-897.
- Passos C, Tassinio B, Loureiro M. & Rosenthal G. 2013 Intra- and intersexual selection on male body size in the annual killifish *Austrolebias charrua*. *Behavior Process*. 96: 20-26. Doi: 10.1016/j.beproc.2013.01.008.
- Passos C, Vidal N, D’Anatro A. 2019. Male mate choice in the annual fish *Austrolebias reicherti* (Cyprinodontiformes: Rivulidae): when size matters. *Journal of Ethology* <https://doi.org/10.1007/s10164-019-00601-w>
- Rafferty y N.E & Boughman. J. W. 2006. Olfactory mate recognition in a sympatric species pair of three-spined sticklabacks. *Behavioral Ecology*, 17(6): 965-970.

- Regan C.T. 1912. A revision of the poeciliid fishes of the genera *Rivulus*, *Pterolebias*, and *Cynolebias*. *Annals and Magazine of Natural History*, ser. 8, 10, 494-508.
- Reis R & Lima F. 2010. *Austrolebias affinis*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2010.1. <www.iucnredlist.org>.
- Reyes F. 2012. Comunicación química asociada al comportamiento sexual en *Austrolebias reicherti* (Cyprinodontiformes, rivulidae). Tesina de grado, Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad de la República, Montevideo.
- Reyes F, Tassinio B, & Passos C. 2018. Females of the annual killifish *Austrolebias reicherti* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) recognize conspecific mates based upon chemical cues. *Behavior Process* 155:33-37. Doi 10.1016/j.beproc.2017.08.007
- Ridley M. 2004. *Evolution*. -Malden, Blackwell Publishing. *Pal Arch's Journal of Vertebrate Palaeontology*, 5(1): 01-01.
- Schluter D. 1998. Ecological causes of speciation. En "Endless forms. Species and speciation" (Howard D. J, & S. H. Berlocher, eds). Oxford University Press, New York.
- Simpson BRC. 1979. The phenology of annual killifishes. *Symp. Zool. Soc. Lond.*44:243-261.
- Trivers R.L .1972. Parental investment and sexual selection. En: Campbell, B. (ed.) *Sexual selection and the descent of man, 1871-1971*. Chicago, Aldine, p. 136-179.
- Turner M. & E. W. Burrows 1995. A model of sympatric speciation by sexual selection. *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.* 260: 287-292.
- Uy JAC & G Borgia. 2000. Sexual selection drives rapid divergence in bowerbird display traits. *Evolution*. 54:273–278.
- Vari RP, LR Malabarba. 1998. Neotropical Ichthyology: and overview. En *Phylogeny and classification of Neotropical Fishes* (Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZM, Lucena CAS Eds.), pp. 1-11. Porto Alegre: EDUPUCRS.
- Vaz-Ferreira R, B Sierra & S Scaglia. 1964. Ecoetología de la reproducción en los peces del género *Cynolebias* Steindachner 1876. *Arch. Soc. Biol. Montev.* 26: 44-49.
- Vaz-Ferreira R, & B Sierra. 1973. Caracteres etológicos, genéricos y específicos en los peces del género *Cynolebias* Steindachner, 1876. *Bol. Soc. Zool. Uruguay*, 2: 22-35.

- Volcan MV, et al. 2017. First record of blackfin pearlfish *Austrolebias nigripinnis* (Regan, 1912) (Cyprinodontiformes, Cynolebiidae) from Brazil. *Zootaxa*, 4254(3): 387-390.
- West-Eberhard MJ. 1983. Sexual selection, social competition and speciation. *Quarterly Review of Biology* 58: 155-183.
- Wong B. B. M, Fisher H. S, & Rosenthal G. G. 2005. Species recognition by male swordtails via chemical cues. *Behavioral Ecology*, 16(4), 818-822.
- Wourms J. P. 1972a. The developmental biology of annual fishes. I. Stages in the normal development of *Austrfundulus myersi*. *J. Exp. Zool.* 182: 143-168.
- Wourms J. P. 1972b. The developmental biology of annual fishes. II. Naturally occurring dispersion and reaggregation of blastomeres during the development of annual fish eggs. *J. Exp. Zool.* 182: 169-200.

Anexo

Cuadro 1. Frecuencia del total de “secuencias exitosas de cortejo”. A (apareamiento), E (enterramiento), DL (despliegue lateral), DS (despliegue sigmoide), IE (invitación al enterramiento), IS (invitación al seguimiento), Q (quietud), AE (aceptación al enterramiento), NO (nado orientado), NE (nado errático), AS (aceptación al seguimiento).

- **6/23 (26%)** representada por las parejas #1, SEC 1, #6, SEC 2, 3 y 4, #19, SEC 3 y pareja #12, SEC 3 **DS↔DL→IE→A→E→DL** para el macho y **NO→Q→AE→A→E→NO** para la hembra.
- **5/23 (21.7%)** representada por las parejas #4 SEC 3, #8, SEC 3 y #12, SEC 1, 2 y 4 **IS↔DL→IE→A→E→NE** para el macho y **NO→Q→AE→A→E→NO** para la hembra.
- **3/23 (13%)** representada por las parejas #5, SEC 1, #8, SEC 1 y #9, SEC 2 **IS↔DL→IE→A→E→DL** o **DS** para el macho y **Q→AS→AE→E→A→NO** para la hembra.
- **3/23 (13%)** representada por las parejas #3, SEC 2, #8, SEC 2 y #9, SEC 1 **IS↔DL→IE→A→E→NE** para el macho y **Q→AS→AE→E→A→NO** para la hembra.
- **3/23 (13%)** representada por las parejas #5, SEC 1, #8, SEC 1 y #9, SEC 2 **IS↔DL→IE→A→E→DL, DS** o **NE** para el macho y **Q** o **NO→AS→AE→A→E→NO** para la hembra.
- **2/23 (8.7%)** representada por pareja #4, SEC 1 y 2 **IE→DL→IE→A→E→DS** para el macho y **Q→NO→AE→A→E→NO** para la hembra.
- **1/23 (4.3%)** representada por pareja #5, SEC 2 **IS→DL→IE→A→E→DL** para el macho y **AS→Q→AE→A→E→NA (fin de grabación)** para la hembra.

Tablas A. (M). Frecuencia - duración absoluta de las unidades por SEC realizadas por los machos.

A. 1) Unidad DL (despliegue lateral).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	26 – 453	18-77	_____	_____
# 3	21 – 205	12-82	_____	_____
# 4	29-305	16-110	52 – 353	_____
# 5	46-1194	29-221	_____	_____
# 6	55 – 308	61-201	24 – 280	20 – 267
# 8	71 – 494	8-72	26 – 96	_____
# 9	56-500	67-190	54 – 210	_____
# 12	18 – 344	3-26	17 – 40	3 – 4

A. 2) Unidad DS (despliegue sigmoide).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	25-106	17 – 46	_____	_____
# 3	6 – 13	11 – 42	_____	_____
# 4	17-86	15 – 20	33 – 40	_____
# 5	23-60	11 – 14	_____	_____
# 6	28-58	47 – 76	7 – 10	7 – 17
# 8	56-123	3 – 6	16 – 33	_____
# 9	38-66	26 – 48	20 – 27	_____
# 12	4 – 4	0 – 0	8 – 9	2 – 2

A. 3) Unidad NE (Nado orientado).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	1 – 323	0 – 0	_____	_____
# 3	3 – 12	0 – 0	_____	_____
# 4	7 – 106	0 – 0	0 – 0	_____
# 5	0 – 0	0 – 0	_____	_____
# 6	0 – 0	0 – 0	9 – 90	12 – 49
# 8	3 – 12	4 – 132	1 – 34	_____
# 9	2 – 10	17 – 51	13 -23	_____
# 12	3 – 12	1 – 3	0 – 0	0 – 0

A. 4) Unidad NO (Nado errático).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	1 – 1	0 – 0	_____	_____
# 3	2 – 5	0 – 0	_____	_____
# 4	0 – 0	0 – 0	4 – 4	_____
# 5	4 – 8	0 -0	_____	_____
# 6	11 – 15	1 – 1	9 – 16	2 – 3
# 8	9 – 17	3 – 38	0 – 0	_____
# 9	4 – 14	6 – 11	6 – 11	_____
# 12	5 - 10	0 – 0	0 - 0	0 – 0

A.5) Unidad A. (Apareamiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	1 – 48	1 – 75	_____	_____
# 3	1 – 256	1 - 137	_____	_____
# 4	1 – 74	1 – 54	1 – 8	_____
# 5	1 – 28	1 – 44	0 – 0	_____
# 6	1 – 9	1 – 48	1 – 49	1 – 36
# 8	1 – 93	1 – 74	1 – 48	_____
# 9	1 – 48	1 – 45	1 – 36	_____
# 12	1- 14	1 – 55	1 – 60	1 – 54

A. 6) Unidad E. (Enterramiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	1 – 67	1 – 43	_____	_____
# 3	1 – 29	1 – 45	_____	_____
# 4	1 – 29	1 – 60	0 – 0	_____
# 5	1 – 18	1 – 1	0 – 0	_____
# 6	1 – 4	1 – 2	1 – 17	1 – 22
# 8	1 – 4	1 – 141	1 – 25	0 – 0
# 9	1 – 16	1 – 17	1 – 3	_____
# 12	1- 12	1 – 499	1 – 363	1 – 183

A. 7) Unidad DLV. (Despliegue lateral vibrado).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	2 – 10	0 – 0	_____	_____
# 3	8 – 24	2 - 8	_____	_____
# 4	0 – 0	0 – 0	0 – 0	_____
# 5	1 – 10	0 – 0	_____	_____
# 6	6 – 29	2 – 3	0 – 0	0 – 0
# 8	5 – 13	1 – 1	0 – 0	_____
# 9	0 – 0	0 – 0	0 – 0	_____
# 12	0 – 0	0 – 0	0 – 0	0 – 0

A. 8) Unidad IE. (Invitación al enterramiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	2 – 420	4 – 49	_____	_____
# 3	1 – 13	1 – 68	_____	_____
# 4	2 – 21	3 – 24	13 – 124	_____
# 5	13 – 154	10 – 87	_____	_____
# 6	2 – 12	12 – 140	3 – 5	4 – 22
# 8	4 – 27	1 – 7	6 – 20	_____
# 9	2 – 6	2 – 8	5 – 23	_____
# 12	2 - 15	1 - 12	2 - 9	1 - 15

A. 9) Unidad IS (Invitación al seguimiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	0 – 0	0 – 0	_____	_____
# 3	0 – 0	1 – 1	_____	_____
# 4	10 – 106	0 – 0	19 – 46	_____
# 5	17 – 60	13 – 25	0 – 0	_____
# 6	14 – 20	19 – 32	3 – 9	2 – 2
# 8	18 – 53	2 – 5	13 – 24	_____
# 9	14 – 25	24 – 55	15 – 52	_____
# 12	4 – 12	1 – 1	10 – 28	1 – 3

A. 10) Unidad ALEJ (Alejamiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	0 – 0	0 – 0	_____	_____
# 3	0 – 0	0 – 0	_____	_____
# 4	0 – 0	0 – 0	0 – 0	_____
# 5	0 – 0	0 – 0	_____	_____
# 6	3 - 4	0 – 0	0 – 0	0 – 0
# 8	0 – 0	0 – 0	0 - 0	_____
# 9	9-	0 – 0	0 – 0	_____
# 12	1 – 6	0 – 0	0 – 0	0 – 0

A. 11) Unidad DSA (Despliegue sigmoide abrazador).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	0 - 0	0 - 0	_____	_____
# 3	0 - 0	0 - 0	_____	_____
# 4	0 - 0	0 - 0	0 - 0	_____
# 5	0 - 0	0 - 0	_____	_____
# 6	0 - 0	2 - 4	0 - 0	1 - 4
# 8	0 - 0	0 - 0	0 - 0	_____
# 9	0 - 0	0 - 0	0 - 0	_____
# 12	0 - 0	0 - 0	0 - 0	0 - 0

Tablas A. (H). Frecuencias - duración absoluta de las unidades por SEC realizada por las hembras.

A. 12) Unidad Q(Quietud).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	34 - 456	8 - 104	_____	_____
# 3	10 - 343	9 - 125	_____	_____
# 4	25 - 455	5 - 108	38 - 323	_____
# 5	10 - 1298	18 - 270	_____	_____
# 6	13 - 395	18 - 344	2 - 27	1 - 18
# 8	48 - 618	3 - 18	29 - 119	_____
# 9	12 - 591	3 - 158	13 - 129	_____
# 12	16 - 264	2 - 29	9 - 38	1 - 8

A. 13) Unidad NO (Nado orientado).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	6 - 16	4 - 5	_____	_____
# 3	5 - 17	7 - 9	_____	_____
# 4	15 - 60	6 - 14	32 - 52	_____
# 5	8 - 72	15 - 32	_____	_____
# 6	7 - 28	16 - 40	1 - 1	1 - 5
# 8	42 - 51	1 - 3	17 - 24	_____
# 9	7 - 17	3 - 11	12 - 36	_____
# 12	8 - 37	2 - 4	2 - 10	1 - 5

A. 14) Unidad NE (Nado errático).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	13 – 774	4 – 15	_____	_____
# 3	5 – 91	2 – 8	_____	_____
# 4	2 – 6	0 – 0	6 – 7	_____
# 5	0 – 0	0 – 0	_____	_____
# 6	0 – 0	3 – 3	0 – 0	0 – 0
# 8	9 – 90	0 – 0	4 – 14	_____
# 9	2 – 5	0 – 0	1 – 1	_____
# 12	4 – 91	1 – 6	0 – 0	0 – 0

A. 15) Unidad AS (Aceptación al seguimiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	0 – 0	0 – 0	_____	_____
# 3	0 – 0	0 – 0	_____	_____
# 4	10 – 107	0 – 0	2 – 5	_____
# 5	1 – 16	3 – 14	_____	_____
# 6	4 – 13	0 – 0	0 – 0	0 – 0
# 8	3 – 23	2 – 4	9 – 16	_____
# 9	4 – 14	4 – 58	0 – 0	_____
# 12	1 – 9	0 – 0	7 – 26	0 – 0

A. 16) Unidades A (Apareamiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	1 – 115	1 – 75	_____	_____
# 3	1 – 187	1 – 172	_____	_____
# 4	1 – 98	1 – 155	1 - ¿?	_____
# 5	1 – 42	1 – 44	_____	_____
# 6	1 – 2	1 – 412	1 – 263	1 – 50
# 8	1 – 324	1 – 230	1 – 54	_____
# 9	1 – 186	1 – 201	1 – 127	_____
# 12	1 – 5	1 -552	1 – 423	1 - 235

A. 17) Unidad E (Enterramiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	1 – 42	1 – 86	_____	_____
# 3	1 – 75	1 – 58	_____	_____
# 4	1 – 21	1 – 68	0 – 0	_____
# 5	1 – 32	1 - ¿?	_____	_____
# 6	1 – 54	1 – 2	1 – 35	1 – 82
# 8	1 – 3	1 – 14	1 – 31	_____
# 9	1 – 9	1 – 53	1 – 137	_____
# 12	1 – 20	1 – 7	1 – 4	1 – 6

A. 18) Unidad ALEJ (Alejamiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	0 - 0	0 - 0	_____	_____
# 3	0 - 0	0 - 0	_____	_____
# 4	0 - 0	0 - 0	1 - 1	_____
# 5	1 - 2	0 - 0	_____	_____
# 6	2 - 28	3 - 40	1 - 1	0 - 0
# 8	3 - 51	0 - 0	1 - 24	_____
# 9	0 - 0	0 - 0	0 - 0	_____
# 12	3 - 37	0 - 0	0 - 0	0 - 0

A. 19) Unidad DS (Despliegue sigmoide).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	14 - 53	0 - 0	_____	_____
# 3	0 - 0	0 - 0	_____	_____
# 4	0 - 0	0 - 0	0 - 0	_____
# 5	0 - 0	0 - 0	_____	_____
# 6	0 - 0	0 - 0	0 - 0	0 - 0
# 8	0 - 0	0 - 0	0 - 0	_____
# 9	0 - 0	0 - 0	0 - 0	_____
# 12	0 - 0	0 - 0	0 - 0	0 - 0

A. 20) Unidad AE (Aceptación al enterramiento).

Parejas	SEC 1	SEC 2	SEC 3	SEC 4
# 1	1 - 7	1 - 5	_____	_____
# 3	1 - 3	1 - 3	_____	_____
# 4	1 - 3	1 - 2	0 - 0	_____
# 5	1 - 5	1 - 7	_____	_____
# 6	1 - 2	1 - 3	1 - 4	1 - 4
# 8	1 - 3	1 - 5	1 - 5	_____
# 9	1 - 3	1 - 4	1 - 11	_____
# 12	1 - 1	1 - 4	1 - 4	1 - 7